

WETENSCHAPPELIJK INSTITUUT
VOLKSGEZONDHEID
INSTITUT SCIENTIFIQUE
DE SANTÉ PUBLIQUE

Les installations de haut niveau de confinement en Belgique

Rapport | Période 1995-2008



Rapport

Les installations de haut niveau de confinement en Belgique

Période 1995 - 2008

Biosécurité et Biotechnologie

Rue Juliette Wytsman 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.iph.fgov.be





Biosécurité et Biotechnologie | Mai 2009 | Bruxelles, Belgique
N° de référence interne : ISP/15/CD/09-0432
Nr. de dépôt: D/2009/2505/40

Auteurs: **C.D. Do Thi**
B. Van Vaerenbergh
Dr P. Herman
Dr Ir. K. Pauwels
F. Coppens
Dr A. Leunda Casi
Dr C. Verheust

Chef de Section: Dr Ir. Myriam Sneyers

Le projet est financièrement soutenu par

La Région de Bruxelles-Capitale *- Bruxelles-Environnement - Institut bruxellois pour la Gestion de l'environnement (IBGE)*
La Région flamande *- Gouvernement flamand - Département Leefmilieu, Natuur en Energie (LNE)*
La Région wallonne *- Service Public de Wallonie - Direction Générale Opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et de l'Environnement (DGARNE)*



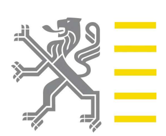








TABLE DES MATIERES

1| Introduction **4**

2| Contexte général: présentation synoptique de la situation en Belgique **5**

2.1| Installations de haut niveau de confinement **5**
2.2| Répartition géographique des installations de haut niveau de confinement **7**
2.3| Types d'installations **9**
- Répartition des installations de niveau 3 par type d'exploitation 9
- Installations de production à grande échelle de niveau 3 10
- Animaleries de niveau de confinement A3 10

2.4| Nature des opérations et organismes manipulés **10**

3| Historique de l'évolution des notifications **12**

4| Cas particuliers rencontrés **14**

5| Cas particuliers des laboratoires de détection de l'agent responsable des encéphalopathies spongiformes bovines (ESB) **15**

6| Références - Législation **16**

7| Remerciements **17**

8| Abréviations **18**

Annexe 1: classement de l'utilisation confinée **19**

Annexe 2: Laboratoires de niveau L3 **21**

Annexe 3: Animaleries de niveau A3 **24**

Annexe 4: Installations de procédés à grande échelle de niveau LS3 **27**



Ce rapport a pour objectif de présenter l'état de la question sur les installations de haut niveau de confinement en Belgique. Il s'agit des installations où se déroulent des utilisations confinées de (micro)-organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes de classe de risque 3. Les données exposées dans ce rapport couvrent la période de 1995 à 2008[1].

1| INTRODUCTION

L'utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM) et/ou pathogènes en milieu confiné peut avoir un impact sur la santé du travailleur, sur la santé publique et sur l'environnement dans la mesure où ils ne sont pas correctement manipulés. Il est donc nécessaire d'évaluer les risques engendrés par l'utilisation de ces OGM ou pathogènes et de prendre des mesures pour les confiner. Les mesures et le niveau de confinement adopté pour ces utilisations confinées sont déterminés par une évaluation des risques biologiques en tenant compte également de la nature des activités qui s'y déroulent.

Pour ce faire, l'adéquation entre les risques et les mesures prises est évaluée sur base des paramètres suivants:

- les caractéristiques techniques des locaux comme l'établissement d'une pression négative de l'air par rapport aux zones adjacentes, la présence d'un sas de confinement, la filtration de l'air sur filtre HEPA, les éviers de lavage et de décontamination, etc
- les équipements de sécurité comme les enceintes de sécurité microbiologique (ESM), les centrifugeuses avec «safety cups», etc.
- les pratiques de travail y compris la gestion des déchets comme l'emploi d'équipements de protection individuelle (blouse, gants, masque...), l'instruction et la formation du personnel, l'inactivation des déchets potentiellement infectieux, etc.

Afin de minimiser les effets négatifs potentiels pour la santé humaine, la santé publique et l'environnement liés à ce type d'utilisation, une réglementation européenne en matière d'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés a été adoptée en 1990 dans le chef de la directive européenne 90/219/CEE[2]. Cette directive a été amendée en 1998 par la directive 98/81/CE[3].

En Belgique, la transposition des directives européennes sus-citées a été opérée au niveau régional. Mais alors que la législation européenne ne couvre que les micro-organismes génétiquement modifiés (MGM), le champ d'application des législations régionales belges a été étendu aux organismes génétiquement modifiés et aux organismes pathogènes pour l'homme, l'animal et la plante.

[1] Les données provenant de ce rapport peuvent être citées ou reproduites, pour autant que la source soit clairement mentionnée.
[2] Council Directive 90/219/EEC of 23 April 1990 on the contained use of genetically modified micro-organisms
[3] Council Directive 98/81/EC of 26 October 1998 amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified micro-organisms



Les gouvernements des trois Régions (Wallonie, Bruxelles-Capitale et Flandre) ont donc implémenté les législations européennes susmentionnées dans le cadre de leur législation environnementale qui s'appliquent aux établissements classés[4]. Dans un tel contexte général, la biosécurité ne constitue qu'un élément parmi l'ensemble des matières couvertes par le permis d'environnement.

Afin d'harmoniser la transposition des directives européennes 90/219/CEE, un Accord de coopération a été signé entre l'Etat fédéral et les Régions en 1997[5] pour la mise en place d'un système commun d'évaluation scientifique de la biosécurité. Grâce à ce système, tous les aspects scientifiques devant être pris en compte dans le cadre des utilisations d'OGM ou pathogènes sont évalués de manière coordonnée et uniforme. Le système commun d'évaluation scientifique est composé du Conseil consultatif de Biosécurité et de la Section Biosécurité et Biotechnologie (SBB) de l'Institut Scientifique de Santé Publique (ISP).

Ainsi, toutes les activités qui se déroulent en laboratoire, animalerie, serre, chambre hospitalière (pour les essais de thérapie génique) dans les installations de production à grande échelle impliquant des organismes pathogènes ou des OGM sont sujets à une autorisation écrite préalable délivrée par les autorités régionales compétentes pour délivrer les permis d'environnement.

Pendant la procédure de demande d’autorisation, une évaluation des risques doit être effectuée par l’utilisateur (le responsable de l’utilisation confinée) puis soumise pour avis au SBB, qui agit en tant qu'expert technique pour les autorités régionales. L'avis motivé du SBB se prononce sur l'adéquation entre les mesures de confinement et les risques liés à l'utilisation confinée.

2| CONTEXTE GENERAL: PRESENTATION SYNOPTIQUE DE LA SITUATION EN BELGIQUE

2.1| INSTALLATIONS DE HAUT NIVEAU DE CONFINEMENT

Les laboratoires (L), les animaleries (A) et les installations de procédés à grande échelle (LS) sont classifiés en fonction d’une échelle de risque proportionnelle à la classe de risque biologique maximal de l’utilisation confinée allant de 1 à 4[6].

[4] - Arrêté du Gouvernement de Bruxelles-Capitale du 9 décembre 1993 relatif aux installations effectuant des opérations mettant en œuvre des micro-organismes ou des organismes, pathogènes ou génétiquement modifiés.
- Arrêté du Gouvernement flamand du 1er juin 1995 fixant les dispositions générales et sectorielles en matière d'hygiène de l'environnement (chapitre 5.51. du VLAREM II - Biotechnologie).
- Arrêté du Gouvernement wallon du 13 juin 1996 modifiant le Règlement général pour la protection du travail en ce qui concerne l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes.

[5] Accord de coopération du 25 avril 1997 entre l'Etat fédéral et les Régions relatif à la coordination administrative et scientifique en matière de biosécurité.

[6] La définition des classes de risque des utilisations confinées est fournie en Annexe 1.





On entend par installations de haut niveau de confinement les installations de niveaux 3 et 4. Comme aucune installation de niveau 4 n'est présente sur le territoire belge, ce rapport concerne uniquement les installations de niveau 3.

Les laboratoires de niveau de confinement 3 (L3) sont conçus de manière à garantir une protection optimale de la santé humaine, des animaux, des plantes et de l'environnement. Dans ces installations, des mesures adéquates sont mises en œuvre pour permettre aux activités de classe de risque 3 de s'y dérouler en réduisant au maximum les risques de propagation des micro-organismes au dehors du confinement.

Dans cette optique, les principales caractéristiques qui différencient un L3 d'un laboratoire de niveau de confinement inférieur résident dans l'application de mesures plus contraignantes afin d'empêcher toute fuite de micro-organismes vers le milieu extérieur. Ces mesures sont, entre autres, les suivantes :

- La pression de l'air est négative dans la(les) zone(s) confinée(s) par rapport aux zones avoisinantes ;
- L'entrée se fait le plus souvent via un sas ;
- Le local peut être rendu étanche pour permettre une décontamination par une substance gazeuse (vapeur de formaldéhyde, peroxyde d'hydrogène) ;
- L'air extrait du L3 est filtré sur filtre HEPA ;
- Les déchets biologiques solides et liquides sont inactivés avant évacuation hors de la zone et incinérés par une société agréée pour l'élimination des déchets dangereux.

En Belgique, depuis l'implémentation de la réglementation imposant la notification de toute utilisation confinée d'OGM et/ou pathogènes, le nombre d'installations de niveau de confinement 3 qui ont été notifiées s'élève à l'heure actuelle à 79.

Ce nombre inclut les laboratoires (L3), les installations à grandes échelles pour la production (LS3) et également les animaleries (A3). Certains L3 abritent parmi les pièces qui le composent, une zone animalerie.

Parmi les L3, on distingue essentiellement deux catégories correspondant d'une part, aux laboratoires de diagnostic médical et d'autre part, aux laboratoires de recherche. Les L3 dédiés au diagnostic sont situés en grande majorité dans des hôpitaux ou des cliniques et opèrent généralement l'identification d'organismes pathogènes de classe de risque 3 transmissibles par l'air (par exemple *Mycobacterium tuberculosis*). On en compte à l'heure actuelle, 15 en activité.

La plupart des laboratoires affectés à la recherche et développement (R&D) se trouvent dans les universités, les industries pharmaceutiques et les laboratoires privés. Les activités effectuées dans les L3 des instituts scientifiques de l'Etat (ISP, CERVA) sont surtout des activités de diagnostic mais on y effectue également de la recherche appliquée.





Parmi les laboratoires de diagnostic, on retrouve les 8 laboratoires de référence agréés par le Ministère de la Santé Publique pour le diagnostic du SIDA. Outre le fait qu'ils appliquent les mesures de confinement de niveau L3, ces laboratoires doivent aussi répondre aux critères de sécurité très stricts définis par l'annexe de l'arrêté royal du 8 octobre 1996[7] fixant les critères d'agrément des laboratoires de référence pour le syndrome d'immuno-déficience acquise. Ces laboratoires sont situés dans les institutions suivantes[8]:

- Université Catholique de Louvain à Bruxelles,
- Institut Scientifique de Santé Publique (ex Institut Pasteur) à Bruxelles,
- Katholieke Universiteit Leuven, Universitair Ziekenhuis à Louvain,
- Université Libre de Bruxelles, Hôpital Universitaire Erasme à Bruxelles,
- Instituut voor Tropische Geneeskunde à Anvers,
- Universiteit van Gent, Universitair Ziekenhuis à Gand,
- CHU de Liège à Liège,
- Vrije Universiteit Brussel, Universitair Ziekenhuis Brussel (ex-AZ VUB) à Bruxelles.

2.2| REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES INSTALLATIONS DE HAUT NIVEAU DE CONFINEMENT

La répartition géographique des installations de niveau 3 est présentée dans la Figure 1.
Les institutions qui possèdent une ou plusieurs installations de niveau de confinement 3 sont réparties de manière assez homogène sur le territoire belge à l'exception de la province du Luxembourg qui n'en compte pas. Une forte concentration est observée en région de Bruxelles-Capitale due à la présence de cinq centres hospitaliers universitaires (Universitair Ziekenhuis Brussel (ex-AZ VUB), Institut Jules Bordet, Hôpital Erasme, Cliniques Universitaires Saint-Luc et CHU Saint-Pierre) ainsi que des universités et institutions scientifiques de l'Etat (CERVA, ISP et UCL). Le grand nombre d'installations présentes en province du Brabant wallon est expliqué par l'implantation d'une grande entreprise pharmaceutique (GlaxoSmithKline Biologicals) sur ce territoire. En province d'Anvers où sont implantées plusieurs entreprises pharmaceutiques (Janssen Pharmaceutica, Tibotec-Virco), on retrouve également un grand nombre d'installations de niveau 3.
En province du Hainaut, toutes les installations de haut niveau de confinement sont concentrées à Charleroi où se trouve l'aéropôle de Gosselies (ULB, Henogen).
En province de Liège, c'est sur le site du Sart-Tilman que sont situés la plupart des L3, et ce, grâce à la présence de l'ULg et du CHU de Liège.

---

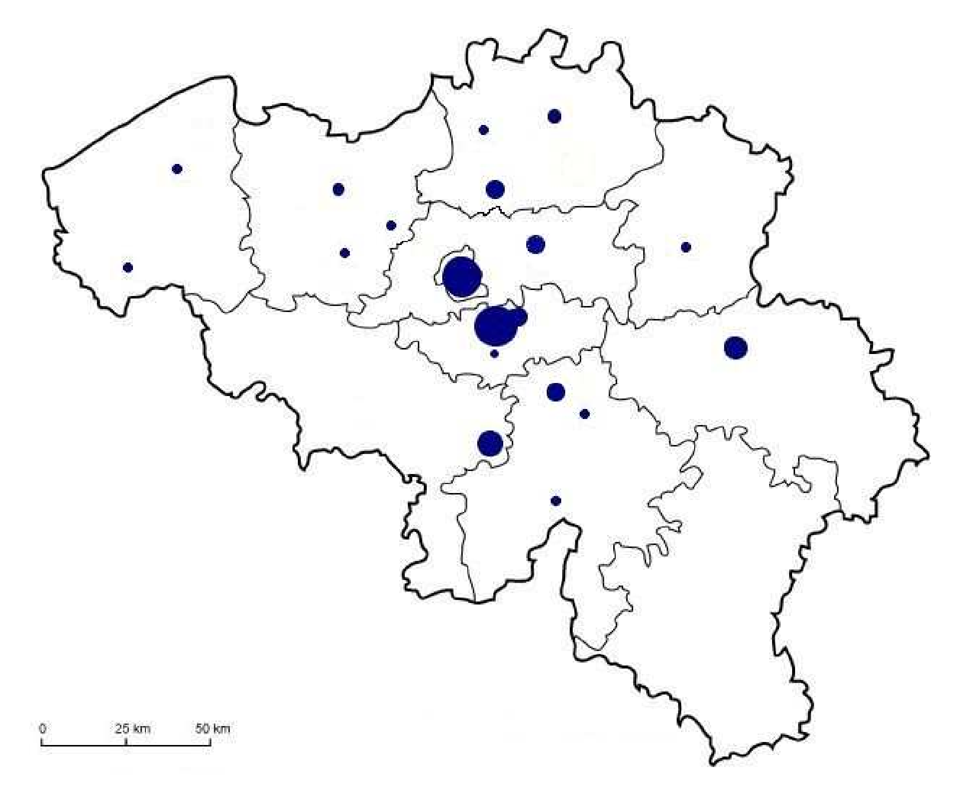
[7] Arrêté royal du 8 octobre 1996 portant fixation des critères d'agrément des laboratoires de référence pour le syndrome d'immuno-déficience acquise

[8] Arrêté ministériel du 24 janvier 1997 désignant les laboratoires agréés de référence pour le syndrome d'immunodéficience acquise





Figure 1 : répartition géographique des installations de niveau de confinement 3 en Belgique



Légende: Les points bleus marquent l'endroit où sont situées les installations de niveau de confinement 3. La taille des points est proportionnelle au nombre d'installations présentes dans la commune ou la ville.

Dans les provinces du Limbourg, de Flandre orientale et de Flandre occidentale, les installations de niveau 3 sont représentées principalement par des laboratoires de diagnostic. En province de Namur on trouve un laboratoire de recherche universitaire (FUNDP - Namur), des installations de production d'une industrie pharmaceutique (GlaxoSmithKline Biologicals) et un laboratoire de diagnostic.

La répartition des installations de la Figure 1 montre que la majeure partie des installations de haut niveau de confinement sont concentrées dans un rayon de ± 50 kilomètres.

En résumé, les installations sont réparties de la manière suivante sur le territoire :

- 43 en Région wallonne
- 21 en Région flamande
- 15 en Région de Bruxelles-Capitale





2.3| TYPES D'INSTALLATIONS

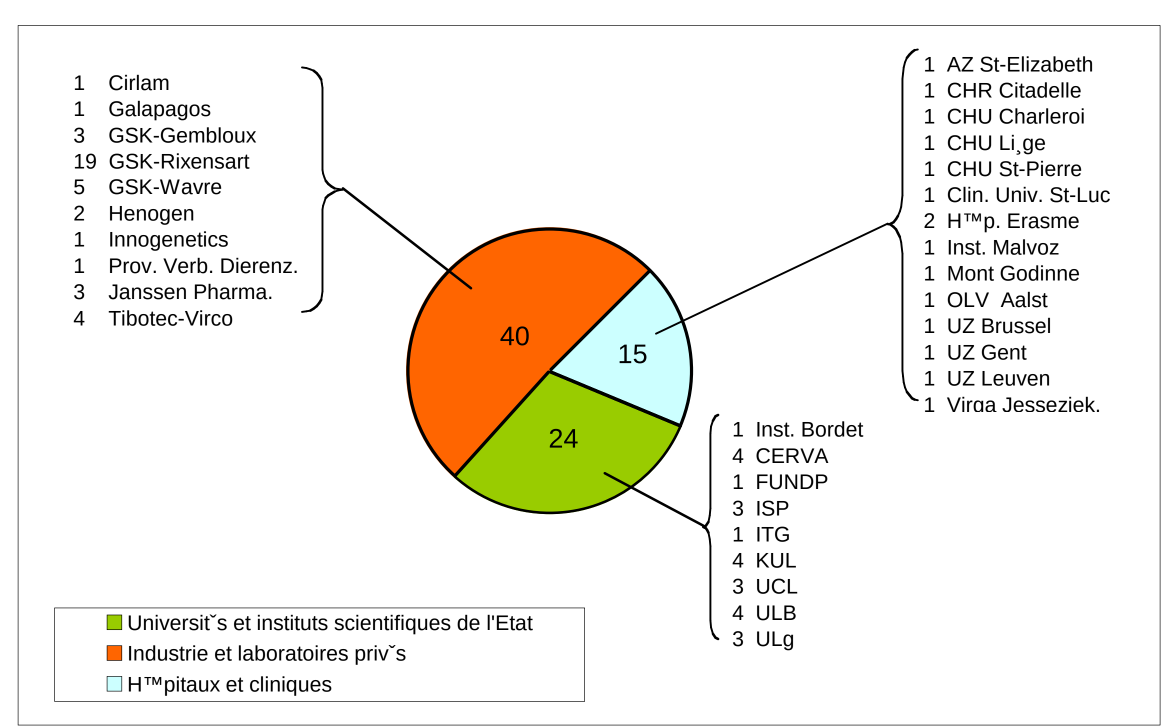
- <u>Répartition des installations de niveau 3 par type d'exploitation</u>

Les installations de haut niveau de confinement peuvent être situées dans différents types d'exploitation. Parmi les exploitations qui possèdent des installations de niveau 3, on distingue les universités et instituts scientifiques de l'Etat, les entreprises et laboratoires privés et, enfin, les hôpitaux et cliniques.
Il n'existe aucune différence dans la qualité du confinement ni dans la fonctionnalité entre les installations de niveau 3 dans les différents types d'exploitations.

Les particularités ne résident que dans la nature des opérations comme le registre des (micro)-organismes manipulés, le but de l'opération tel que la recherche, le diagnostic ou la production, ou bien encore l'échelle de l'activité.

La répartition, sciemment arbitraire de la Figure 2, n'est présentée que dans le but d'obtenir une vue d'ensemble sur le nombre et la nature des utilisations confinées de niveau 3 en Belgique.

Figure 2: Répartition des installations de niveau 3 par type d'exploitation



Légende: On dénombre 40 installations de niveau de confinement 3 dans l'industrie pharmaceutique et les laboratoires privés, correspondant à plus de la moitié des installations de niveau 3 en Belgique. Vingt-quatre installations de niveau 3 sont situées dans les universités et les institutions scientifiques de l'Etat. Quinze L3 se trouvent dans les hôpitaux et les cliniques.





- Installations de production à grande échelle de niveau 3

Le secteur de l'industrie pharmaceutique peut comporter diverses activités comme la recherche et développement de nouveaux produits, la fabrication et la production de médicaments et de vaccins, le contrôle de qualité des produits et de l'environnement. Il est courant que ces différents types d'activités soient situés sur un même site. Il est donc logique d'y retrouver des L3, des animaleries de niveau de confinement 3 (A3) et des installations à grande échelle de niveau de confinement 3 (LS3). Ceux-ci hébergent les activités de production nécessitant la culture de gros volumes ou de fortes concentrations de virus, de vecteurs viraux ou de bactéries pathogènes par exemple.

- Animaleries de niveau de confinement A3

Parmi les 85 installations de niveau 3 présentes en Belgique, 9 sont des animaleries. Les A3 sont essentiellement constituées de locaux d'hébergement pour animaux d'expérience mais elles peuvent également inclure des zones de stockage d'aliments, des vestiaires, des douches, des autoclaves. Les animaux hébergés sont des animaux expérimentalement infectés par des micro-organismes pathogènes.

Les A3 se trouvent dans les institutions suivantes: CERVA - site Uccle, GlaxoSmithKline Biologicals, Janssen Pharmaceutica, KUL, Tibotec-Virco, ULg et ULB.

2.4| NATURE DES OPERATIONS ET ORGANISMES MANIPULES

Seulement 10 des installations de niveau de confinement 3 servent à confiner la manipulation de MGM (virus ou bactéries de classe de risque 3 génétiquement modifiés et production de certains vecteurs viraux recombinants) alors que 41 installations servent uniquement à la manipulation de micro-organismes pathogènes non génétiquement modifiés (virus et bactéries pathogènes de classe de risque 3 pour l'homme, virus zoopathogènes de classe de risque 4 pour les animaux). Dans 28 cas, des utilisations confinées impliquant à la fois des micro-organismes pathogènes non génétiquement modifiés et des MGM s'y déroulent.

Le Tableau 1 ci-dessous donne un aperçu non exhaustif des micro-organismes les plus souvent rencontrés.





Tableau 1 : micro-organismes les plus souvent rencontrés dans les installations de haut niveau de confinement.

Type d'organisme	*Agent biologique*	*Genre et espèce ou famille*
Organismes pathogènes	Virus	Dengue virus Human Hepatitis B Virus (HBV) Human Hepatitis C Virus (HCV) Human Immunodeficiency Virus (HIV) Human T-cell lymphotropic viruses (HTLV) Severe acute respiratory syndrome virus (SARS) Simian Immunodeficiency virus (SIV) Zoopathogènes: Rinderpest virus (peste bovine), Foot-and-mouth disease viruses (fièvre aphteuse), Bluetongue virus (BTV), African swine fever virus (peste porcine), virus de la peste des petits ruminants (PPRV)
	Bactéries	*Espèces du complexe Mycobacterium tuberculosis* *Brucella* *Chlamydia psitacci* *Bacillus anthracis* *Franciscella tularensis,* type A *Yersinia pestis*
	Agents non conventionnels	Prions agents des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST)
	Autres	Production à grande échelle de bactéries de classe de risque 2 transmissibles par l'air : *Haemophillus influenza* *Neisseria meningitidis* *Streptoccocus pneumonia*
MGM	Vecteurs viraux	Vecteur adénoviraux recombinants Vecteurs lentiviraux recombinants
	Virus recombinants	Hantavirus Human Immunodeficiency Virus (HIV) Rétrovirus Simian Immunodeficiency Virus (SIV)
	Bactéries recombinantes	*Brucella melitensis* *Mycobacterium tuberculosis*
	Cultures cellulaires	Cellules infectées Cellules transfectées par des vecteurs viraux recombinants

Remarque : La manipulation des micro-organismes cités dans le tableau ne doit pas systématiquement s'effectuer dans un L3, autrement dit, il n'y a pas de corrélation systématique entre la classe de risque





d'un organisme et le niveau de confinement adopté pour le manipuler. Une évaluation des risque doit être effectuée au cas par cas et le niveau de confinement requis ainsi que les pratiques de travail sont déterminés en tenant compte de différents facteurs comme l'échelle de l'activité, le type de manipulation, la nature des inserts clonés dans le vecteur viral.[9]

Par exemple, l'adoption d'un niveau de confinement 3 est seulement requise pour la production de vecteurs adénoviraux porteurs d'un insert qui est de nature à potentialiser le risque (par exemple: gène codant pour un oncogène, gène codant pour une toxine, gène codant pour un déterminant viral, bactérien, fongique ou parasitaire de spécificité d'hôte) et pour la production en grandes quantités des suspensions virales. En revanche, elle n'est pas exigée lorsque l'insert ne code pas pour un produit dangereux.

Le diagnostic de la tuberculose constitue un autre exemple fréquemment rencontré : le diagnostic microbiologique des maladies causées par les mycobactéries peut être divisé en deux étapes distinctes: la primo-identification et l'identification ultérieure à la primo-culture. Les activités de diagnostic comprenant les cultures primaires à partir d'échantillons cliniques potentiellement infectés par des bacilles du complexe *Mycobacterium tuberculosis* doivent être effectuées dans un niveau de confinement L2 avec des mesures de sécurité additionnelles (pratiques de travail de niveau 3). Par contre, toutes les autres manipulations ultérieures à la primo-identification impliquant l'ouverture des tubes de cultures positives, et les cultures secondaires doivent s'effectuer dans un laboratoire de niveau de confinement 3.[10]

3| HISTORIQUE DE L'EVOLUTION DES NOTIFICATIONS

Depuis l'entrée en vigueur des arrêtés régionaux relatifs à l'utilisation confinée d'OGM ou pathogènes, les différences que l'on peut observer d'une région à l'autre dans le nombre de notifications d'installations de haut niveau de confinement proviennent du fait que les trois arrêtés régionaux ne sont pas entrés en vigueur au même moment. La Région de Bruxelles-Capitale a transposé la directive 90/219/CEE le 9 décembre 1993, la Région flamande le 1er juin 1995 et la Région wallonne le 13 juin 1996.

Dans la Figure 3, on observe que l'évolution des notifications d'utilisations confinées reflète un tant soit peu l'historique des transpositions de la directive.

Les notifications des installations de niveau 3 ont donc commencé en 1995 avec les premiers dossiers de la Région de Bruxelles-Capitale. Si aucune demande d'utilisation confinée de classe de risque 3 n'a été introduite en 1996, en 1997, 21 installations de niveau 3 ont été notifiées. Ce fait correspond à la

[9] Biological Risk Assessment sheets: Practical examples of risk Assessement and Biosafety Recommendations for the Contained Use of Genetically Modified (Micro-)Organisms: http://www.biosafety.be/CU/RA_Fiches/Intro_and_menu.html

[10] Biosafety Recommendations for the Contained Use of Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates in Industrialized Countries: http://www.biosafety.be/CU/PDF/Mtub_Final_DL.pdf

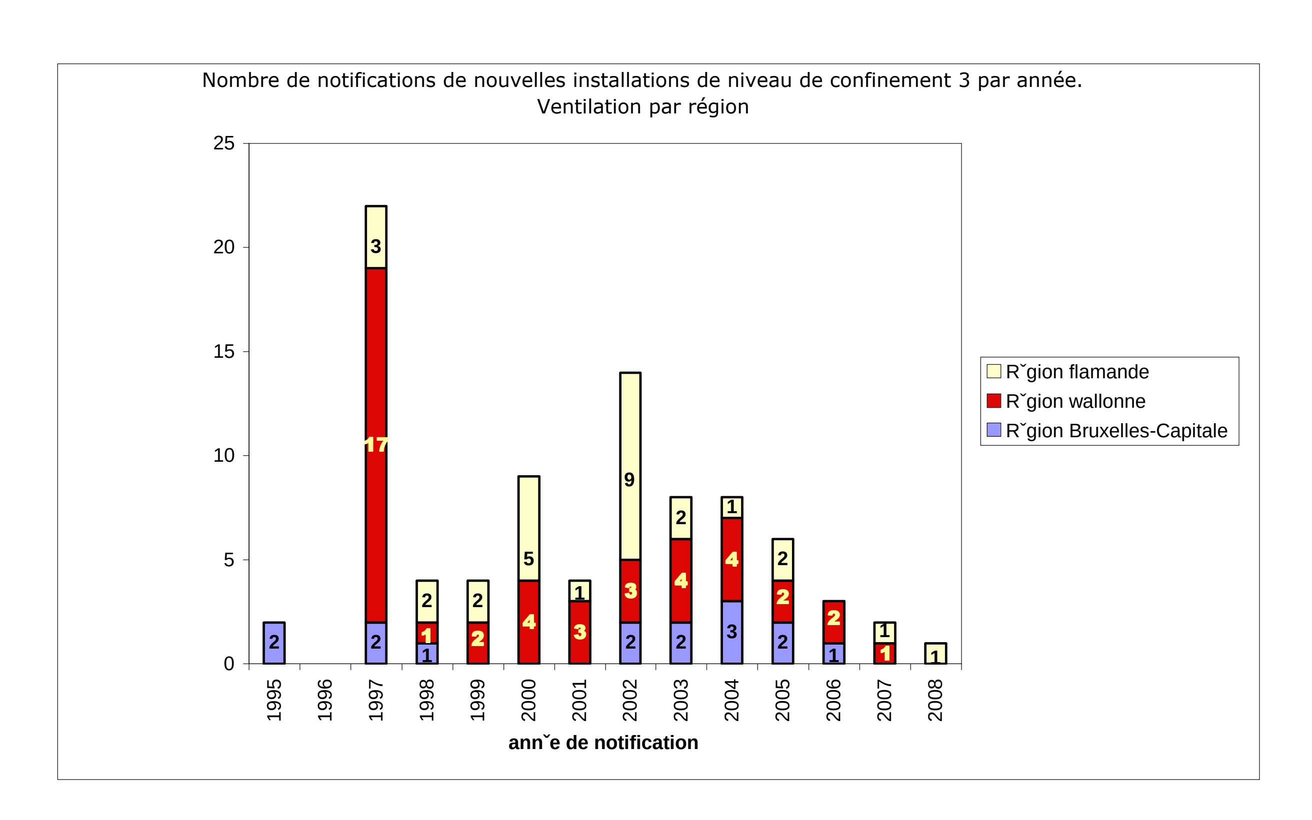


première notification de la société GlaxoSmithKline Biologicals qui, alors, possédait à elle seule 16 installations de niveau 3 comprenant des L3 ou des suites de plusieurs L3, des LS3 et des A3.

La plupart des universités ont introduit leurs dossiers à partir de 1998 avec des pics en 2000 et 2002. Durant les deux années 2003 et 2004, les notifications de L3 se sont stabilisées à 8 nouvelles installations par année, puis s'ensuit une diminution progressive de nouvelles notifications jusqu'à ce jour.

L'évolution du nombre des notifications montre qu'après un période de régularisation suite à la parution des législations belges en matière d'utilisation confinée, le nombre de nouvelles demandes décroît sensiblement. Ceci laisse penser qu'à ce jour, la quasi-totalité des installations de haut niveau de confinement sont notifiées.

Figure 3 : évolution des notifications d'utilisations confinées de classe de risque 3 - ventilation par région.



Remarque: Entre 1995 et 2008, 87 installations de niveau de confinement 3 ont été notifiées, réparties dans 35 exploitations différentes. Depuis lors, deux exploitants ont déclaré arrêter leurs utilisations confinées de classe de risque 3, ce qui correspond à la fermeture de 8 installations de niveau 3. Ainsi, 79 installations de niveau de confinement 3 sont encore actuellement en activité; elles sont réparties dans 33 exploitations (voir Figure 2)





4| CAS PARTICULIERS RENCONTRES

Plusieurs demandes d'autorisation d'utilisations confinées nécessitant un niveau de confinement 3 ont reçu un avis défavorable. Ce fut surtout le cas au début du processus de notifications (1994 à 1998) où 9 avis défavorables de l'expert technique des régions ont été remis pour cause de non conformité du confinement avec les critères de niveau 3 ou lorsqu'un L3 est requis mais est absent dans l'établissement. Il s'agissait pour la majorité des cas, de laboratoires de diagnostic pour l'identification des mycobactéries. En 2004, deux cas ont également été rencontrés, où des défauts par rapport aux exigences de confinement ont été relevés.

Les observations les plus fréquemment rencontrées lors des visites de laboratoires sont des lacunes dans le maintien de la pression négative de l'air à l'intérieur de la zone L3, le manque d'étanchéité en cas de fumigation, l'absence d'évier à commande non manuelle, des défaillances dans le traitement des déchets biologiquement contaminés ou bien encore des méthodes d'inactivation des effluents inappropriées.

Il est important de signaler qu'à l'exception d'une animalerie de niveau 3, tous les laboratoires concernés ont été mis en conformité après les visites et interventions des services d'autorisation et d'inspection des autorités compétentes et du SBB.

A l'inverse, on rencontre aussi le cas d'installations de niveau 3 qui sont utilisées à des fins qui ne nécessitent pas un tel niveau de confinement, comme par exemple des cultures cellulaires à des fins de production d'anticorps ou la production de bactéries pathogènes de classe de risque 2 non transmissibles par l'air (*Salmonella*) ou encore la production de vecteurs rétroviraux recombinants à des fins d'essais cliniques. L'adoption de mesures de confinement plus strictes provient le plus souvent de la nécessité de combiner le respect des règles de biosécurité avec des exigences de qualité dans la production (de type GMP). Ces installations sont néanmoins comptabilisées dans le nombre total de L3 en Belgique puisqu'elles remplissent tous les critères nécessaires pour ce niveau de confinement. Ces installations peuvent donc potentiellement héberger des (micro-)organismes de classe de risque 3 génétiquement modifiés ou non.





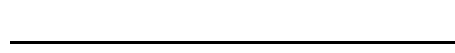
5| CAS PARTICULIERS DES LABORATOIRES DE DETECTION DE L'AGENT RESPONSABLE DES ENCEPHALOPATHIES SPONGIFORMES BOVINES (ESB)

Il existe des laboratoires de haut niveau de confinement qui n'ont pas été inclus dans l'inventaire des 79 installations précédemment mentionnées. Il s'agit des laboratoires qui effectuent le dépistage des encéphalopathies spongiformes bovines par tests rapides.
Ces laboratoires qui ont pour activité l'exécution des tests de détection rapide des ESB constituent une catégorie particulière car ils ne doivent pas répondre à l'ensemble des caractéristiques techniques d'un laboratoire L3 conventionnel.

Les agents responsables des ESB sont des prions ou agents non conventionnels de classe de risque 3 pour l'homme et l'animal. Le dépistage par tests rapides de ces agents requiert un niveau de confinement L3 à l'exception de trois critères de confinement qui ne sont pas exigées, il s'agit de:
- la pression négative de l'air dans la zone confinée,
- la filtration de l'air extrait par filtre HEPA,
- l'étanchéité des locaux en cas de décontamination par une substance gazeuse.

Une attention particulière est exigée concernant les pratiques de travail et la gestion des déchets attendu que les prions sont particulièrement résistants aux méthodes d'inactivation classiques.

En Belgique, 25 laboratoires qui ont pour activité la détection rapide des ESB sont en activité. Ils satisfont aux critères pertinents du niveau de confinement L3 complétés par des mesures ayant trait aux pratiques de travail et à la gestion des déchets.[11]



[11] - Annexe IV, point 4.1.4 de l'Arrêté du Gouvernement wallon du 4 juillet 2002 déterminant les conditions sectorielles relatives aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes.
- Annexe IV, point 4.1.4 de l'Arrêté du Gouvernement de la Région de Bruxelles-Capitale du 8 novembre 2001 relatif à l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes et au classement des installations concernées.
- Annexe V, 5.51.4, point 4.1.1 de l'Arrêté du Gouvernement flamand du 6 février 2004 modifiant l'arrêté du Gouvernement flamand du 6 février 1991 fixant le règlement flamand relatif à l'autorisation écologique et modifiant l'arrêté du Gouvernement flamand du 1er juin 1995 fixant les dispositions générales et sectorielles en matière d'hygiène de l'environnement.





6| RÉFÉRENCES - LÉGISLATION

Council Directive 90/219/EEC of 23 April 1990 on the contained use of genetically modified micro-organisms.

Council Directive 98/81/EC of 26 October 1998 amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified micro-organisms.

Accord de coopération du 25 avril 1997 entre l'Etat fédéral et les Régions relatif à la coordination administrative et scientifique en matière de biosécurité

3 MARS 1998. - Loi portant assentiment à l'accord de coopération entre l'Etat fédéral et les Régions relatif à la coordination administrative et scientifique en matière de biosécurité (MB 14.07.1998, page 22773)

Arrêté royal du 8 octobre 1996 portant fixation des critères d'agrément des laboratoires de référence pour le syndrome d'immuno-déficience acquise

Arrêté ministériel du 24 janvier 1997 désignant les laboratoires agréés de référence pour le syndrome d'immunodéficience acquise (MB 28.11.1996, p.29910)

Arrêté du Gouvernement de Bruxelles-Capitale du 9 décembre 1993 relatif aux installations effectuant des opérations mettant en oeuvre des micro-organismes ou des organismes, pathogènes ou génétiquement modifiés (MB 25.01.1994, p. 1424).

Arrêté du Gouvernement de la Région de Bruxelles-Capitale du 8 novembre 2001 relatif à l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes et au classement des installations concernées (MB 26.10.2002, p. 7209).

Arrêté du Gouvernement flamand du 1er juin 1995 fixant les dispositions générales et sectorielles en matière d'hygiène de l'environnement (chapitre 5.51. du VLAREM II - Biotechnologie) (MB 31.07.1995, p. 20526).

Arrêté du Gouvernement flamand du 6 février 2004 modifiant l’arrêté du Gouvernement flamand du 6 février 1991 fixant le règlement flamand relatif à l’autorisation écologique et modifiant l’arrêté du Gouvernement flamand du 1er juin 1995 fixant les dispositions générales et sectorielles en matière d’hygiène de l’environnement (MB 01.04.2004, p. 18362).

Arrêté du Gouvernement wallon du 13 juin 1996 modifiant le Règlement général pour la protection du travail en ce qui concerne l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes (MB 25.10.1996, p. 27405).

Arrêté du Gouvernement wallon du 4 juillet 2002 déterminant les conditions sectorielles relatives aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes (MB 21.09.2002, p. 41711).

Norme NBN EN 12128. Biotechnologie - Laboratoires de recherche, de développement et d'analyse - Niveaux de confinement des laboratoires de microbiologie, zones à risque, situations et exigences physiques de sécurité

Norme NBN EN 1620. Biotechnologie - Procédé à grande échelle et production - Installation industrielle selon le niveau de danger

NBN EN 12738. Biotechnologie - Laboratoires de recherche, développement et analyse - Guide pour le confinement des animaux inoculés avec des microorganismes utilisés à des fins expérimentales

Biological Risk Assessment sheets: Practical examples of risk Assessement and Biosafety Recommendations for the Contained Use of Genetically Modified (Micro-)Organisms: http://www.biosafety.be/CU/RA_Fiches/Intro_and_menu.html





Biosafety Recommendations for the Contained Use of Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates in Industrialized Countries.
Philippe Herman, Maryse Fauville-Dufaux, Didier Breyer, Bernadette Van Vaerenbergh, Katia Pauwels, Chuong Dai Do Thi, M. Sneyers, Maryse Wanlin, René Snacken & William Moens: 2006, Royal Library of Belgium Deposit Number : D/2006/2505/22
http://www.biosafety.be/CU/PDF/Mtub_Final_DL.pdf

7| REMERCIEMENTS

Ce projet est financièrement soutenu par les Régions flamande, wallonne et de Bruxelles-Capitale.
Nous remercions

- le Département Leefmilieu, Natuur en Energie (LNE) du Gouvernement flamand;
- la Direction Générale Opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et de l'Environnement (DGARNE) du Service Public de Wallonie;
- l'Institut bruxellois pour la Gestion de l'environnement (IBGE) de la Région de Bruxelles-Capitale.

Nous remercions Annabel Motté de la Cellule Traduction de l'ISP et Fatima Bouchahrouf de la Cellule Communication de l'ISP pour leur aide précieuse.





8| ABREVIATIONS

CERVA	Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques
FUNDP	Fondation Universitaire Notre-Dame de la Paix à Namur
ISP	Institut scientifique de Santé Publique
ITG	Instituut voor Tropische Geneeskunde Antwerpen
KUL	Katholieke Universiteit Leuven
SBB	Section Biosécurité et Biotechnologie de l'ISP
UCL	Université Catholique de Louvain
ULB	Université Libre de Bruxelles
Ulg	Université de Liège
ESB	Encéphalopathie spongiforme bovine
ESM	Enceinte de sécurité microbiologique
GMP	Good laboratory practices
HEPA	High efficiency particulate air (filter)
MGM	Micro-organisme génétiquement modifié
OGM	Organisme génétiquement modifié





ANNEXE 1

Afin d'éviter que l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes n'entraîne des effets négatifs pour la santé humaine ou l'environnement, l'utilisateur procède à une évaluation préalable des risques de l'utilisation confinée à l'égard de la santé humaine et de l'environnement, en utilisant au moins les éléments d'évaluation et la procédure à suivre pour effectuer l'évaluation.

1) Classement de l'utilisation confinée

L'évaluation des risques permet de ranger les utilisations confinées dans l'une des quatre classes définies ci-dessous et de fixer le niveau de confinement: :

Classe 1 : utilisations confinées pour lesquelles le risque est nul ou négligeable, c'est-à-dire les utilisations pour lesquelles le niveau 1 de confinement est indiqué pour protéger la santé humaine et l'environnement;

Classe 2 : utilisations confinées présentant un risque faible, c'est-à-dire les utilisations pour lesquelles le niveau 2 de confinement est indiqué pour protéger la santé humaine et l'environnement;

Classe 3 : utilisations confinées présentant un risque modéré, c'est-à-dire les utilisations pour lesquelles le niveau 3 de confinement est indiqué pour protéger la santé humaine et l'environnement;

Classe 4 : utilisations confinées présentant un risque élevé, c'est-à-dire les utilisations pour lesquelles le niveau 4 de confinement est indiqué pour protéger la santé humaine et l'environnement.

2) Eléments d'évaluation

Les éléments suivants doivent être considérés comme des effets potentiellement nocifs :
- les maladies pouvant affecter l'homme, y compris les effets allergisants ou toxiques;
- les maladies pouvant affecter les animaux ou les végétaux;
- les effets délétères dus à l'impossibilité de soigner une maladie ou de disposer d'une prophylaxie efficace;
- les effets délétères dus à l'établissement ou à la dissémination dans l'environnement;
- les effets délétères dus au transfert naturel dans d'autres organismes de matériel génétique inséré.

L'évaluation doit être fondée sur les éléments suivants :
- l'identification de tout effet potentiellement nocif, notamment de ceux qui sont liés :

  i) à l'organisme récepteur;
  ii) au matériel génétique inséré (provenant de l'organisme donneur);
  iii) au vecteur;
  iv) à l'organisme donneur (pour autant que l'organisme donneur soit utilisé au cours de l'utilisation);
  v) à l' OGM qui en résulte;

- les caractéristiques de l'utilisation;
- la gravité des effets potentiellement nocifs;
- la possibilité de voir les effets potentiellement nocifs se réaliser.

3) Procédure à suivre

La première étape de la procédure d'évaluation consiste à identifier les propriétés nocives de l'organisme récepteur et, le cas échéant, de l'organisme donneur, les propriétés nocives liées au vecteur ou au matériel inséré, y compris toute modification des propriétés existantes de l'organisme récepteur.





Afin de prendre connaissance des informations nécessaires à la mise en œuvre de cette procédure, l'utilisateur se réfèrera en premier lieu aux annexes techniques des arrêtés régionaux. Cette annexe prend en considération la législation communautaire pertinente, en particulier, la directive 2000/54/CE du Parlement européen et du Conseil du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail de référence suivante, ainsi que les classifications internationales ou nationales (par exemple celles de l'OMS, du NIH, etc.) et les révisions dont elles ont fait l'objet en raison des nouvelles connaissances scientifiques et des progrès techniques. L'annexe classifie les organismes en quatre classes de risque qui peuvent servir de guide pour répartir les opérations impliquant une utilisation confinée dans les quatre classes de risque. Les classifications visées ci-dessus ne donnent qu'une indication provisoire de la classe de risque de l'utilisation confinée et de l'ensemble des mesures de confinement et de protection qui lui sont applicables.

La procédure d'identification des risques doit aboutir à l'identification du niveau de risque associé aux OGM et/ou pathogènes.

Le choix des mesures de confinement et autres mesures de protection doit ensuite être opéré sur la base du niveau de risque associé aux OGM et/ou pathogènes, compte tenu des éléments suivants :

- i) les caractéristiques de l'environnement susceptible d'être exposé (voir par exemple si l'environnement susceptible d'être exposé aux OGM et/ou pathogènes contient des biotes connus qui peuvent être affectés négativement par les organismes utilisés dans l'opération en utilisation confinée);
- ii) les caractéristiques de l'utilisation confinée (par exemple : son échelle, sa nature);
- iii) toute utilisation confinée non standardisée (par exemple : inoculation d'OGM et/ou pathogènes à des animaux, équipement susceptible de générer des aérosols).

La prise en compte, en vue d'une utilisation confinée particulière, des éléments visés aux points i) à iii) peut accroître, diminuer ou laisser inchangé le niveau de risque associé aux OGM et/ou pathogènes.

L'analyse effectuée dans les conditions décrites ci-dessus conduira finalement à classer l'utilisation confinée en cause dans l'une des classes de risque.

La classification définitive de l'utilisation confinée doit être confirmée par un réexamen de l'ensemble de la procédure d'évaluation des risques.





ANNEXE 2

Mesures génériques de confinement et autres mesures de protection Laboratoires de niveau L3

Agencement et caractéristiques techniques des laboratoires

1. Le laboratoire est physiquement séparé des autres zones d'activités dans le bâtiment ou est situé dans un bâtiment séparé.
2. L'entrée au laboratoire s'effectue via un sas.
3. La première porte du sas peut être verrouillée et contrôlée par un système électronique ou équivalent.
4. Les portes du sas sont pourvues d'un système de fermeture automatique. Un dispositif particulier est installé pour empêcher que les portes du sas ne puissent être ouvertes en même temps (par exemple grâce à un système “interlock”). Ce dispositif est tel qu'il ne gène pas les secours en cas d'accident.
5. Les fenêtres sont scellées hermétiquement.
6. Le local peut être rendu étanche de manière à permettre une décontamination au moyen d'une substance gazeuse.
7. Le mobilier est conçu de manière à faciliter le nettoyage et la décontamination du local, ainsi que le programme de contrôle des insectes et des rongeurs.
8. Le laboratoire est pourvu d'une fenêtre d'observation ou d'un système équivalent permettant de voir les occupants depuis l'extérieur.
9. La zone confinée dispose d'un évier à commande non manuelle pour le lavage et la décontamination des mains. Cet évier est disposé dans le sas.
10. Des vestiaires ou portemanteaux sont mis à disposition du personnel pour les vêtements de protection. Les vêtements de protection et les vêtements de ville ne sont pas mis en contact.
11. Les conduites d'apport de fluides sont munies de dispositifs anti-reflux.
12. Le sol et les tables de travail sont faciles à nettoyer, imperméables à l'eau, résistants aux substances acides ou alcalines, aux solvants organiques, aux désinfectants et aux agents de décontamination utilisés.
13. Un système électrique autonome en cas de panne de courant existe; celui-ci alimente au minimum le système de ventilation.
14. Le laboratoire dispose d'un système automatique de détection et d'alarme incendie.
15. La zone confinée dispose d'un interphone, téléphone ou tout autre système permettant de communiquer avec l'extérieur.
16. La zone de travail est maintenue en permanence à une pression négative de l'air par rapport aux zones adjacentes pour éviter tout transfert de contamination de l'intérieur vers l'extérieur.
17. La pression négative de l'air dans la zone confinée est créée et maintenue par un système de ventilation mécanique assurant un apport et une extraction dynamique de l'air.
18. La pression négative relative de l'air est contrôlée par un manomètre, et un système d'alarme se déclenche en cas de défaillance du système de ventilation.
19. Si le système d'alimentation d'air n'est pas assuré par un système indépendant de celui des zones adjacentes (système indépendant recommandé), un filtre HEPA ou des clapets sont installés pour prévenir le refoulement d'air. Si le système d'extraction d'air n'est pas assuré par un système indépendant de celui des zones adjacentes (système indépendant recommandé), un second filtre HEPA est installé à l'extraction.
20. Le système d'alimentation de l'air est asservi au système d'extraction de façon à éviter une surpression en cas de panne accidentelle à l'évacuation.
21. Les gaines d'alimentation et d'extraction d'air sont munis de clapets.
22. L'air extrait du laboratoire est filtré au travers d'un filtre HEPA. En aucun cas, cet air n'est remis en circulation dans le bâtiment ou dans des bâtiments adjacents ou dispersé à proximité de prises d'air ou de locaux communiquant vers l'extérieur, à moins qu'un second filtre HEPA ne soit installé à l'extraction.





23. Le changement des filtres HEPA se fait après une décontamination préalable ou dans des conditions permettant d'éviter toute contamination, en suivant les règles définies par l'installateur.
24. Les conduites d'air sont conçues pour permettre la décontamination du local au moyen d'une substance gazeuse.
25. Un taux de renouvellement d'air adéquat permet de ventiler la zone contrôlée afin de réduire au maximum la contamination de l'air.

Equipement de sécurité

26. Le laboratoire dispose d'au moins une enceinte de sécurité microbiologique si des manipulations en phase ouverte sont réalisées. Elle est installée de manière à ne pas perturber l'équilibre des courants d'air à l'intérieur de la zone de travail. Elle est placée à l'écart des portes, fenêtres, grilles d'arrivée et d'évacuation d'air et des endroits de passage fréquent. Elle est contrôlée et certifiée au placement, après chaque déplacement et au moins une fois par an. Elle est conforme à la norme européenne EN 12469.
27. Un autoclave, de préférence à double entrée, est accessible dans la zone confinée.
28. Le matériel biologique est centrifugé dans des centrifugeuses accessibles dans la zone confinée. Celui-ci est placé en tubes étanches dans des rotors ou nacelles présentant un système de fermeture hermétique ("safety cups") contenant les aérosols en cas de bris ou de fissure de tubes.
29. Si un système générateur de vide est utilisé, il est pourvu d'un filtre HEPA.

Pratiques de travail et méthodes de gestion des déchets

30. L'accès au laboratoire est réservé aux personnes autorisées par le responsable et informées des risques potentiels. Un système de contrôle d'accès est mis en place.
31. Sur la porte d'accès au laboratoire figure l'affichage suivant :
    - le pictogramme "Danger biologique",
    - le niveau de confinement,
    - les coordonnées du responsable de la zone,
    - la nature du risque biologique,
    - la liste des personnes autorisées d'accès,
    - les critères d'accès à la zone confinée.
32. Un équipement spécifique est réservé au laboratoire.
33. L'emploi d'une tenue de protection est requis. Cette tenue de protection est spécifique de la zone confinée et ne peut pas être portée en dehors de celle-ci. Elle est décontaminée de préférence avant sa sortie de la zone confinée pour lavage ou élimination.
34. Des gants doivent être portés.
35. En dehors des manipulations, les (micro-)organismes pathogènes et/ou génétiquement modifiés viables sont confinés dans des systèmes (tubes, boîtes...) fermés.
36. Il faut empêcher la création d'éclaboussures et la formation d'aérosols et contrôler leur dissémination via l'utilisation d'équipements et de pratiques appropriés.
37. Toute manipulation susceptible de produire des aérosols infectieux ou comportant des risques potentiels se fait dans l'enceinte de sécurité microbiologique.
38. L'utilisation d'une hotte à flux laminaire horizontal est proscrite pour la manipulation des micro-organismes pathogènes et/ou génétiquement modifiés.
39. Des dispositifs de pipetage mécanique sont utilisés. Le pipetage à la bouche est proscrit.
40. Il est interdit de manger, boire, fumer, de manipuler des lentilles de contact, d'utiliser des produits cosmétiques ou de stocker de la nourriture destinée à la consommation humaine dans le laboratoire.
41. Un registre consignant tous les organismes pathogènes et/ou génétiquement modifiés manipulés et stockés doit être tenu.
42. Les mesures de contrôle ainsi que l'équipement de contrôle et de protection sont vérifiés de manière appropriée et régulière.
43. Les expérimentateurs se lavent les mains avant de quitter la zone confinée pour une autre activité et chaque fois que cela s'avère nécessaire.
44. Les surfaces de travail sont décontaminées à l'aide d'un désinfectant approprié une fois le travail terminé et chaque fois que du matériel biologique est répandu.





45. Une notice mise à disposition du personnel spécifie le mode d'emploi des désinfectants et précise en fonction du but recherché, la nature du désinfectant à utiliser, sa concentration et le temps de contact.
46. Une instruction du personnel sur les aspects biosécuritaires est organisée ainsi qu'un suivi et une mise à jour régulière. Le personnel est spécialement formé pour son travail en zone de confinement 3.
47. Un manuel de sécurité biologique est préparé et adopté. Le personnel est prévenu des risques particuliers auxquels il est exposé et est tenu de lire les instructions sur les pratiques de travail. La conduite à tenir en cas d'accident est clairement affichée dans le laboratoire.
48. Le pictogramme "Danger biologique" est apposé sur les incubateurs, frigos, congélateurs et cryopréservateurs à azote liquide contenant du matériel biologique de classe de risque 2 ou supérieure.
49. Un programme de contrôle efficace des insectes et des rongeurs est mis en application.
50. La circulation d'animaux dans le laboratoire est interdite.
51. La gestion des déchets et/ou matières biologiques résiduelles satisfait aux conditions suivantes:
    - Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles contaminés et le matériel contaminé à usage unique sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation, par exemple par autoclavage ou incinération. L'incinération est effectuée par une installation agréée. Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont résistants, étanches, marqués du pictogramme "Danger biologique", fermés et désinfectés avant de quitter la zone confinée.
    - Avant lavage, réemploi et/ou destruction, le matériel contaminé (verrerie, lames, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé.
52. Les effluents des éviers et des douches sont de préférence inactivés par un procédé approprié et validé avant l'évacuation finale.





ANNEXE 3

Mesures génériques de confinement et autres mesures de protection Animaleries de niveau A3

Agencement et caractéristiques techniques des laboratoires

1. L'animalerie est physiquement séparée des autres zones d'activités dans le bâtiment ou est situé dans un bâtiment séparé.
2. L'entrée à l'animalerie s'effectue via un sas.
3. La porte d'entrée du sas peut être verrouillée et contrôlée par un système électronique ou équivalent.
4. Les portes du sas sont pourvues d'un système de fermeture automatique. Un dispositif particulier est installé pour empêcher que les portes du sas ne puissent être ouvertes en même temps (par exemple grâce à un système "interlock"). Ce dispositif est tel qu'il ne gène pas les secours en cas d'accident.
5. Les fenêtres sont scellées hermétiquement.
6. Le local peut être rendu étanche de manière à permettre une décontamination au moyen d'une substance gazeuse.
7. L'animalerie est conçue afin d'éviter toute fuite accidentelle d'animaux.
8. Le local est pourvu d'une fenêtre d'observation ou d'un système équivalent permettant de voir les occupants depuis l'extérieur.
9. La zone confinée dispose d'un évier à commande non manuelle pour le lavage et la décontamination des mains. Cet évier est disposé dans le sas ou à proximité de la sortie de la zone confinée.
10. Une douche est disposée soit dans la zone confinée, soit dans le sas.
11. Des vestiaires ou portemanteaux sont mis à disposition du personnel pour les vêtements de protection. Les vêtements de protection et les vêtements de ville ne sont pas mis en contact.
12. Les conduites d'apport de fluides sont munies de dispositifs anti-reflux.
13. L'animalerie a un local séparé pour le stockage des cages propres, de la nourriture et de la litière.
14. Les cages, les surfaces de travail, le sol, les murs et le plafond sont faciles à nettoyer, imperméables à l'eau, résistants aux désinfectants et aux agents de décontamination utilisés.
15. L'animalerie est dotée d'une installation de lavage des cages.
16. Un système électrique autonome en cas de panne de courant existe; celui-ci alimente au minimum le système de ventilation.
17. Le local dispose d'un système automatique de détection et d'alarme incendie.
18. La zone confinée dispose d'un interphone, téléphone ou tout autre système permettant de communiquer avec l'extérieur.
19. La zone de travail est maintenue en permanence à une pression négative de l'air par rapport aux zones adjacentes pour éviter tout transfert de contamination de l'intérieur vers l'extérieur.
20. La pression négative de l'air dans la zone confinée est créée et maintenue par un système de ventilation mécanique assurant un apport et une extraction dynamique de l'air.
21. La pression négative relative de l'air est contrôlée par un manomètre, et un système d'alarme se déclenche en cas de défaillance du système de ventilation.
22. Si le système d'alimentation d'air n'est pas assuré par un système indépendant de celui des zones adjacentes (système indépendant recommandé), un filtre HEPA ou des clapets sont installés pour prévenir le refoulement d'air. Si le système d'extraction d'air n'est pas assuré par un système indépendant de celui des zones adjacentes (système indépendant recommandé), un second filtre HEPA est installé à l'extraction.
23. Le système d'alimentation de l'air est asservi au système d'extraction de façon à éviter une surpression en cas de panne accidentelle à l'évacuation.
24. Les gaines d'alimentation et d'extraction d'air sont munis de clapets.
25. L'air extrait de la zone confinée est filtré au travers d'un filtre HEPA. En aucun cas, cet air n'est remis en circulation dans le bâtiment ou dans des bâtiments adjacents ou dispersé à proximité de prises d'air ou de locaux communicant vers l'extérieur, à moins qu'un second filtre HEPA ne soit installé à l'extraction.





26. Le changement des filtres HEPA se fait après une décontamination préalable ou dans des conditions permettant d'éviter toute contamination, en suivant les règles définies par l'installateur.
27. Les conduites d'air sont conçues pour permettre la décontamination du local au moyen d'une substance gazeuse.
28. Un taux de renouvellement d'air adéquat permet de ventiler la zone contrôlée afin de réduire au maximum la contamination de l'air.

Equipement de sécurité

29. Si le local dispose d'une enceinte de sécurité microbiologique, celle-ci est installée de manière à ne pas perturber l'équilibre des courants d'air à l'intérieur de la zone de travail. Elle est placée à l'écart des portes, fenêtres, grilles d'arrivée et d'évacuation d'air et des endroits de passage fréquent. Elle est contrôlée et certifiée au placement, après chaque déplacement et au moins une fois par an. Elle est conforme à la norme européenne EN 12469.
30. Les animaux sont maintenus dans des cages ou dans des installations de confinement appropriées équivalentes.
31. Les animaux sont maintenus dans des isolateurs pourvus d'un filtre HEPA.
32. Un autoclave, de préférence à double entrée, est accessible dans la zone confinée.
33. Un dispositif de décontamination de l'équipement sortant est mis en place (dispositif de fumigation ou bain de désinfectant)

Pratiques de travail et méthodes de gestion des déchets

34. L'accès à l'animalerie est réservé aux personnes autorisées par le responsable et informées des risques potentiels. Un système de contrôle d'accès est mis en place.
35. Sur la porte d'accès à l'animalerie figure l'affichage suivant :
    - le pictogramme "Danger biologique",
    - le niveau de confinement,
    - les coordonnées du responsable de la zone;
    - la nature du risque biologique,
    - la liste des personnes autorisées d'accès,
    - les critères d'accès à la zone confinée.
36. Un équipement spécifique est réservé à l'animalerie.
37. L'emploi d'une tenue de protection est requis. Cette tenue de protection est spécifique de la zone confinée et ne peut pas être portée en dehors de celle-ci. Elle est décontaminée avant sa sortie de la zone confinée pour lavage ou élimination.
38. Des gants doivent être portés.
39. Il faut empêcher la création d'éclaboussures et la formation d'aérosols et contrôler leur dissémination via l'utilisation d'équipements et de pratiques appropriés.
40. L'utilisation d'une hotte à flux laminaire horizontal est proscrite pour la manipulation des (micro-)organismes pathogènes et/ou génétiquement modifiés et des animaux contaminés.
41. Des dispositifs de pipetage mécanique sont utilisés. Le pipetage à la bouche est proscrit.
42. Il est interdit de manger, boire, fumer, de manipuler des lentilles de contact, d'utiliser des produits cosmétiques ou de stocker de la nourriture destinée à la consommation humaine dans le local.
43. Un registre consignant toutes les opérations effectuées (entrées et sorties d'animaux, inoculations à des animaux de (micro-) organismes pathogènes et/ou génétiquement modifiés, etc.) doit être tenu.
44. Les mesures de contrôle ainsi que l'équipement de contrôle et de protection sont vérifiés de manière appropriée et régulière.
45. Les expérimentateurs se lavent les mains avant de quitter la zone confinée pour une autre activité et chaque fois que cela s'avère nécessaire.
46. Les surfaces de travail sont décontaminées à l'aide d'un désinfectant approprié une fois le travail terminé et chaque fois que du matériel biologique est répandu.
47. Une notice mise à disposition du personnel spécifie le mode d'emploi des désinfectants et précise en fonction du but recherché, la nature du désinfectant à utiliser, sa concentration et le temps de contact.
48. Les siphons contiennent du désinfectant.





49. Une instruction du personnel sur les aspects biosécuritaires est organisée ainsi qu'un suivi et une mise à jour régulière. Le personnel est spécialement formé pour son travail en zone de confinement 3.
50. Un manuel de sécurité biologique est préparé et adopté. Le personnel est prévenu des risques particuliers auxquels il est exposé et est tenu de lire les instructions sur les pratiques de travail. La conduite à tenir en cas d'accident est clairement affichée dans le local.
51. Le pictogramme "Danger biologique" est apposé sur les incubateurs, frigos, congélateurs et cryopréservateurs à azote liquide contenant du matériel biologique de classe de risque 2 ou supérieure.
52. Un programme de contrôle efficace des vecteurs potentiels tels que les insectes et les rongeurs est mis en application.
53. Les animaux faisant partie de l'expérience sont isolés dans un local séparé.
54. La gestion des déchets et/ou matières biologiques résiduelles satisfait aux conditions suivantes:
    - Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles contaminés (cadavres, excréments, litières contaminées, etc.) et le matériel contaminé à usage unique sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation, par exemple par autoclavage ou incinération. L'incinération est effectuée par une installation agréée. Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont résistants, étanches, marqués du pictogramme "Danger biologique", fermés et désinfectés avant de quitter la zone confinée.
    - Avant lavage, réemploi et/ou destruction, le matériel contaminé (verrerie, cages, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé.
55. Les effluents des éviers et des douches sont de préférence inactivés par un procédé approprié et validé avant l'évacuation finale.





ANNEXE 4

Mesures génériques de confinement et autres mesures de protection Installations de procédés à grande échelle de niveau LS3

Agencement et caractéristiques techniques des laboratoires

1. L'installation est physiquement séparée des autres zones d'activités dans le bâtiment ou est située dans un bâtiment séparé.
2. Le bâtiment renfermant l'installation est suffisamment éloigné de toute chaussée ou dans le cas contraire, est résistant à l'impact éventuel de véhicules.
3. L'installation est équipée, pour le passage de matériel, d'un sas permettant la décontamination de ce matériel par exemple par fumigation ou par immersion et pour le personnel, d'un sas servant de vestiaire.
4. La première porte du sas est verrouillable et contrôlée par un système électronique ou équivalent.
5. Les portes du sas sont pourvues d'un système de fermeture automatique. Un dispositif particulier est installé pour empêcher que les portes du sas ne puissent être ouvertes en même temps (par exemple grâce à un système “interlock”). Ce dispositif est tel qu'il ne gène pas les secours en cas d'accident.
6. L'installation dispose d'une sortie de secours (porte à une issue ou système équivalent et procédures).
7. Les fenêtres sont scellées hermétiquement.
8. La zone de travail peut être rendue étanche de manière à permettre une décontamination au moyen d’une substance gazeuse.
9. L'installation est conçue de manière à faciliter le nettoyage et la décontamination de la zone de travail, ainsi que le programme de contrôle des insectes et des rongeurs.
10. L'installation est pourvue d'une fenêtre d'observation ou d'un système équivalent permettant de voir les occupants depuis l'extérieur.
11. La zone confinée dispose d'un évier à commande non manuelle pour le lavage et la décontamination des mains. Cet évier est disposé dans le "sas personnel".
12. Une douche de secours peut être disposée soit dans la zone de travail, soit dans le sas.
13. Les sanitaires se trouvent à l'extérieur de l'installation.
14. Des vestiaires ou portemanteaux sont mis à disposition du personnel pour les vêtements de protection. Les vêtements de protection et les vêtements de ville ne sont pas mis en contact.
15. Les conduites d'apport de fluides sont munies de dispositifs anti-reflux.
16. Le sol et les tables de travail sont faciles à nettoyer, imperméables à l'eau, résistantes aux substances acides ou alcalines, aux solvants organiques, aux désinfectants et aux agents de décontamination utilisés.
17. La zone de travail doit être aménagée de manière à pouvoir capter le contenu du confinement primaire en cas de rupture ou de fuite importante. Le volume de ce dispositif de captage sera au moins égal au volume individuel du confinement primaire le plus important.
18. Un système électrique autonome en cas de panne de courant existe.
19. Le laboratoire dispose d'un système automatique de détection et d'alarme incendie.
20. La zone confinée dispose d'un interphone, téléphone ou tout autre système permettant de communiquer avec l’extérieur.
21. La zone de travail est maintenue en permanence à une pression négative de l'air par rapport aux zones adjacentes pour éviter tout transfert de contamination de l'intérieur vers l'extérieur.
22. La pression négative relative de l'air est contrôlée par un manomètre, et il est recommandé qu'un système d'alarme se déclenche en cas de défaillance du système de ventilation.
23. Si le système d'alimentation d'air n'est pas assuré par un système indépendant de celui des zones adjacentes (système indépendant recommandé), un filtre HEPA ou des clapets sont installés pour prévenir le refoulement d'air. Si le système d'extraction d'air n'est pas assuré par un système indépendant de celui des zones adjacentes (système indépendant recommandé), un second filtre HEPA est installé à l'extraction.
24. Le système d'alimentation d'air est asservi au système d'extraction de façon à éviter une surpression en cas de panne accidentelle à l'évacuation.
25. Les systèmes d'alimentation et d'extraction d'air peuvent être fermés au moyen de clapets.





26. L'air extrait de la zone confinée est filtré au travers d'un filtre HEPA. En aucun cas, cet air n'est remis en circulation dans le bâtiment ou dans des bâtiments adjacents ou dispersé à proximité de prises d'air ou de locaux communicant vers l'extérieur, à moins qu'un second filtre HEPA ne soit installé à l'extraction.
27. Le changement des filtres HEPA se fait après une décontamination préalable ou dans des conditions permettant d'éviter toute contamination, en suivant les règles définies par l'installateur.
28. Les conduites d'air sont conçues pour permettre la décontamination de la zone de travail au moyen d'une substance gazeuse.
29. Le système de ventilation dispose d'une alimentation électrique de secours en cas de coupure du courant général.
30. Le système de ventilation est accessible pour l'inspection et la maintenance en dehors de la zone confinée.
31. Un taux de renouvellement d'air adéquat permet de ventiler la zone contrôlée afin de réduire au maximum la contamination de l'air.

<u>Equipement de sécurité</u>

32. L'installation dispose d'au moins une enceinte de sécurité microbiologique si des manipulations en phase ouverte sont réalisées. Elle est installée de manière à ne pas perturber l'équilibre des courants d'air à l'intérieur de la zone de travail. Elle est placée à l'écart des portes, fenêtres, grilles d'arrivée et d'évacuation d'air et des endroits de passage fréquent. Elle est contrôlée et certifiée au placement, après chaque déplacement et au moins une fois par an.
33. Le confinement primaire (équipements de production) est conçu de manière à éviter toute fuite.
34. Les équipements de production sont dotés de ou raccordés directement à un système d'inactivation du matériel biologique (par exemple raccordés à une station de décontamination).
35. Les effluents gazeux provenant des équipements de production sont contrôlés microbiologiquement afin d'éviter la dissémination de micro-organismes dans l'air.
36. On recourt à des systèmes confinés pour effectuer des inoculations ou pour transférer du matériel biologique d'un système à un autre.
37. Un autoclave à double entrée est accessible dans l'installation. Les portes de l'autoclave doivent être asservies pour empêcher leur ouverture simultanée.
38. Le matériel biologique est centrifugé dans des centrifugeuses accessibles dans la zone confinée. Celui-ci est placé en tubes étanches dans des rotors ou nacelles présentant un système de fermeture hermétique ("safety cups") contenant les aérosols en cas de bris ou de fissure de tubes.
39. Si un système générateur de vide est utilisé, il est pourvu d'un filtre HEPA.

<u>Pratiques de travail et méthodes de gestion des déchets</u>

40. L'accès à l'installation est réservé aux personnes autorisées par le responsable et informées des risques potentiels et requises pour les besoins immédiats pendant la production. Un système de contrôle d'accès est mis en place.
41. Sur la porte d'accès à l'installation figure l'affichage suivant:
    - le pictogramme "Danger biologique",
    - le niveau de confinement,
    - les coordonnées du responsable de l'installation;
    - la nature du risque biologique,
    - la liste des personnes autorisées d'accès,
    - les critères d'accès à l'installation.
42. Un équipement spécifique est réservé au laboratoire.
43. L'emploi d'une tenue de protection est requis. Cette tenue de protection est constituée d'une combinaison et de couvre-chaussures (ou de chaussures réservées à la zone). Cette tenue de protection est spécifique de la zone confinée et ne peut pas être portée en dehors de celle-ci. Elle est décontaminée de préférence avant sa sortie de la zone confinée pour lavage ou élimination.
44. Des gants sont mis à disposition du personnel de l'installation et utilisés lorsque nécessaire.
45. Des masques respiratoires et des lunettes de protection ou une visière de protection faciale sont utilisés pour les procédures à risque et pour les interventions d'urgence en cas d'accident.
46. Des "Spill kits" sont disponibles dans la zone confinée et utilisés pour les interventions d'urgence en cas d'incident.





47. En dehors des manipulations, les (micro-)organismes pathogènes et/ou génétiquement modifiés viables sont confinés dans des systèmes (tubes, boîtes, ...) fermés.
48. Il faut minimiser la création d'éclaboussures et la formation d'aérosols (par exemple au cours du prélèvement d'échantillons, de l'ajout de matériel à un système fermé ou du transfert de matériel dans un autre système fermé) et contrôler leur dissémination via l'utilisation d'équipements et de pratiques appropriés.
49. Toute manipulation en phase ouverte susceptible de produire des aérosols infectieux ou comportant des risques potentiels se fait dans une enceinte de sécurité microbiologique.
50. L'utilisation d'une hotte à flux laminaire horizontal est proscrite pour la manipulation des micro-organismes pathogènes et/ou génétiquement modifiés.
51. Pour la prise d'échantillons, on utilise des récipients se fermant hermétiquement, incassables et pouvant être désinfectés.
52. Des dispositifs de pipetage mécanique sont utilisés. Le pipetage à la bouche est proscrit.
53. Il est interdit de manger, boire, fumer, de manipuler des lentilles de contact, d'utiliser des produits cosmétiques ou de stocker de la nourriture destinée à la consommation humaine dans l'installation.
54. Un registre consignant tous les organismes pathogènes et/ou génétiquement modifiés manipulés et stockés doit être tenu.
55. Les mesures de contrôle ainsi que l'équipement de contrôle et de protection sont vérifiés de manière appropriée et régulière.
56. Les expérimentateurs se lavent les mains avant de quitter l'installation pour une autre activité et chaque fois que cela s'avère nécessaire.
57. Les surfaces de travail sont décontaminées à l'aide d'un désinfectant approprié une fois le travail terminé et chaque fois que du matériel biologique est répandu.
58. Une notice mise à disposition du personnel spécifie le mode d'emploi des désinfectants et préciser en fonction du but recherché, la nature du désinfectant à utiliser, sa concentration et le temps de contact.
59. Une instruction du personnel sur les aspects biosécuritaires est organisée ainsi qu'un suivi et une mise à jour régulière. Le personnel est spécialement formé pour son travail en zone de confinement 3.
60. Un manuel de sécurité biologique est préparé et adopté. Le personnel autorisé à entrer dans l'installation est prévenu des risques particuliers auxquels il est exposé et est tenu de lire les instructions sur les pratiques de travail. La conduite à tenir en cas d'accident est clairement affichée dans l'installation.
61. Le pictogramme "Danger biologique" est apposé sur les incubateurs, frigos, congélateurs et cryopréservateurs à azote liquide contenant du matériel biologique de classe de risque 2 ou supérieure.
62. Un programme de contrôle efficace des insectes et des rongeurs est mis en application.
63. La circulation d'animaux dans l'installation est interdite.
64. La gestion des déchets et/ou matières biologiques résiduelles satisfait aux conditions suivantes:
    - Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles contaminés et le matériel contaminé à usage unique sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation, par exemple par autoclavage ou incinération. L'incinération est effectuée par une installation agréée. Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont résistants, étanches, marqués du pictogramme "Danger biologique" et fermés avant de quitter l'installation.
    - Avant lavage, réemploi et/ou destruction, le matériel contaminé (verrerie, lames, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé.
65. Les effluents des éviers et des douches sont de préférence inactivés par un procédé approprié et validé avant l'évacuation finale.



BIOSÉCURITÉ & BIOTECHNOLOGIE
Dr Ir. Myriam Sneyers
T +32 2 642 55 12 | F +32 2 642 52 92
myriam.sneyers@iph.fgov.be
http://www.biosafety. be

SIEGE CENTRAL
Rue Juliette Wytsman 14
1050 Bruxelles | Belgique
T +32 2 642 51 11 | F +32 2 642 50 01

SITE UCCLE
Rue Engeland 642
1180 Bruxelles | Belgium
T +32 2 373 31 11 | F +32 2 373 32 82

www.iph.fgov.be



Editeur responsable
Dr Johan Peeters
Rue Juliette Wytsman 14
1050 Bruxelles | Belgique

N° de dépôt
D/2009/2505/40

La Science au service de la Santé Publique, de la Sécurité de la chaîne alimentaire et de l'Environnement.